

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 2003年 9月30日
Date of Application:

出願番号 特願2003-341157
Application Number:
[ST. 10/C]: [JP2003-341157]

出願人 オリンパス株式会社
Applicant(s):

2003年10月22日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



【書類名】 特許願
【整理番号】 03P02051
【提出日】 平成15年 9月30日
【あて先】 特許庁長官 殿
【国際特許分類】 G02B 21/34
【発明者】
 【住所又は居所】 東京都渋谷区幡ヶ谷 2 丁目 4 3 番 2 号 オリンパス光学工業株式
 会社内
 【氏名】 岡田 尚史
【特許出願人】
 【識別番号】 000000376
 【氏名又は名称】 オリンパス光学工業株式会社
【代理人】
 【識別番号】 100058479
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 鈴江 武彦
 【電話番号】 03-3502-3181
【選任した代理人】
 【識別番号】 100091351
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 河野 哲
【選任した代理人】
 【識別番号】 100084618
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 村松 貞男
【選任した代理人】
 【識別番号】 100100952
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 風間 鉄也
【先の出願に基づく優先権主張】
 【出願番号】 特願2002-317997
 【出願日】 平成14年10月31日
【手数料の表示】
 【予納台帳番号】 011567
 【納付金額】 21,000円
【提出物件の目録】
 【物件名】 特許請求の範囲 1
 【物件名】 明細書 1
 【物件名】 図面 1
 【物件名】 要約書 1
 【包括委任状番号】 0010297

【書類名】 特許請求の範囲**【請求項 1】**

試料から必要領域を得るためのマイクロダイセクション装置であり、

レーザ光を射出するレーザ光源と、

前記レーザ光源からのレーザ光を試料に照射するレーザ光照射用光学系とを備え、

レーザ光照射用光学系は、前記必要領域を反映したパターンを形成可能な能動光学素子を含んでおり、

前記能動光学素子に形成される前記パターンにより前記試料に照射されるレーザ光照射領域を設定する、マイクロダイセクション装置。

【請求項 2】

前記能動光学素子に形成された前記パターンの像を前記試料上に投影するパターン像投影光学系を更に備えている、請求項 1 に記載のマイクロダイセクション装置。

【請求項 3】

前記試料の観察像を取得する観察用光学系を更に備えている、請求項 2 に記載のマイクロダイセクション装置。

【請求項 4】

観察用光学系で取得された観察像を表示する表示手段と、前記能動光学素子に形成されるパターンを設定する情報を入力する入力手段とを有している、請求項 3 に記載のマイクロダイセクション装置。

【請求項 5】

観察用光学系で取得された観察像に基づいて前記能動光学素子に形成されるパターンを設定する制御手段とを有している、請求項 3 に記載のマイクロダイセクション装置。

【請求項 6】

前記レーザ光照射用光学系は前記能動光学素子に形成された前記パターンに従って前記必要領域を取り囲む前記試料の部分にレーザ光を選択的に照射し、前記試料に照射されるレーザ光は前記試料を蒸発させるに十分なエネルギー密度を有し、前記試料はレーザ光が照射された部分が蒸発され、前記必要領域が前記試料から切り離される、請求項 1 に記載のマイクロダイセクション装置。

【請求項 7】

前記レーザ光照射用光学系は、試料の近くに配置される対物レンズと、前記能動光学素子と前記対物レンズの間の光路上に適宜配置されるリレーレンズと、前記リレーレンズを光路に対して着脱するリレーレンズ着脱機構とを含んでおり、

前記リレーレンズが光路上に位置する状態においては、前記能動光学素子は前記必要領域を反映したパターンを形成し、前記レーザ光照射用光学系は前記能動光学素子に形成された前記パターンに従って前記必要領域を除いた前記試料の部分にレーザ光を選択的に照射し、

前記リレーレンズが光路から外れた状態においては、前記レーザ光照射用光学系は前記対物レンズによりレーザ光のビームを収束して前記試料に照射する、請求項 1 に記載のマイクロダイセクション装置。

【請求項 8】

前記リレーレンズが光路から外れた状態において、前記対物レンズにより収束されて前記試料に照射されるレーザ光のビームは、前記試料を蒸発させるに十分なエネルギー密度を有している、請求項 7 に記載のマイクロダイセクション装置。

【請求項 9】

前記試料上に形成されるレーザ光のビームスポットと前記試料とを相対的に移動させる移動手段を更に備えており、レーザ光のビームスポットは前記移動手段により前記必要領域を含む回収したい領域を取り囲むように前記試料の上を相対的に移動され、前記試料はレーザ光が照射された部分が蒸発され切断され、前記必要領域を含む回収したい領域が前記試料から切り離される、請求項 8 に記載のマイクロダイセクション装置。

【請求項 10】

前記能動光学素子は、透過型能動光学素子である請求項 1 に記載のマイクロダイセクション装置。

【請求項 1 1】

前記能動光学素子は、反射型能動光学素子である請求項 1 に記載のマイクロダイセクション装置。

【請求項 1 2】

試料から必要領域を得るためのマイクロダイセクション方法であり、

前記必要領域を反映したパターンを形成可能な能動光学素子を介してレーザ光を前記試料に照射する、マイクロダイセクション方法。

【請求項 1 3】

前記能動光学素子に形成された前記パターンに従って前記必要領域を取り囲む前記試料の部分にレーザ光を選択的に照射して蒸発させて、前記必要領域を前記試料から切り離す、請求項 1 2 に記載のマイクロダイセクション方法。

【請求項 1 4】

前記能動光学素子に形成された前記パターンの像を前記試料上に投影し、

前記試料の観察像を取得し、

取得したの観察像に基づいて前記能動光学素子に形成されるパターンを設定する、請求項 1 3 に記載のマイクロダイセクション方法。

【請求項 1 5】

前記能動光学素子に形成された前記パターンに従って前記必要領域を除く前記試料の部分にレーザ光を選択的に照射し、

このレーザ光の選択的照射は、必要に応じて、位置を変えて繰り返し行い、

レーザ光のビームを収束して前記試料に照射しながら、前記試料上に形成されたレーザ光のビームスポットを前記必要領域を含む回収したい領域を取り囲むように前記試料の上を相対的に移動させ、レーザ光が照射された前記試料の部分を蒸発させて、前記必要領域を含む回収したい領域を前記試料から切り離す、請求項 1 2 に記載のマイクロダイセクション方法。

【書類名】 明細書**【発明の名称】** マイクロダイセクション装置および方法**【技術分野】****【0001】**

本発明は、生体試料の顕微鏡切断を行うためのマイクロダイセクション装置および方法に関する。

【背景技術】**【0002】**

最近、遺伝子などの研究分野では、生体試料切片の特定の細胞についてDNA解析などを行うため、生体試料切片から目的とする細胞のみを取り出すための技術が極めて重要になっている。

【0003】

従来、顕微鏡下で生体試料切片から必要な細胞を切り出すための装置として、以下に述べるような試料上の必要な領域を回収する方法を採用したマイクロダイセクション装置が提案されている。

【0004】

米国特許第5998129号公報には、フィルムを貼った試料固定台（スライドガラス）上に試料を固定し、電動ステージにより試料を動かしながら、対物レンズを通したUVレーザ光により試料上の必要な領域の輪郭をなぞることでフィルムごと切断し、その後、切断した領域にフォーカスをずらしたUVレーザ光を照射して弾き飛ばし、試料上方に配置した試料回収用粘着キャップに切断した試料領域を貼り付けて回収する方法が開示されている。

【0005】

米国特許第6215550B1号公報には、IRレーザ光を照射した領域のみを接着するような接着フィルムのついた試料回収用接着キャップを試料上に載置し、試料上の必要な領域にIRレーザ光を照射し、接着フィルム面に試料上の必要な領域のみを接着させることにより回収する方法が開示されている。

【0006】

米国特許出願公開第2002/0048747A1号明細書には、フィルムを貼った試料固定台（スライドガラス）上に試料を固定し、試料固定台の試料固定面を下方に向けるとともに、試料固定台上方から対物レンズを通したUVレーザ光により試料上の必要な領域の輪郭をなぞることでフィルムごと切断し、試料の下方に配置した試料回収チューブに切断した試料領域を落とし込んで回収する方法が開示されている。

【0007】

これらの方法は、いずれも顕微鏡下の試料に対して、必要な領域を切り分ける技術と、この切り分けた領域を回収する技術とで構成されている。

【0008】

また、これらの方法では、試料上の必要な領域の輪郭をレーザ光でなぞったり、試料上の必要な領域全面にレーザ光を走査したりするため、固定されたレーザ光線に対して試料側を動かすための、例えばステップモータを用いた電動XYステージを用いたり、固定された試料に対してレーザ光を走査するための、例えばガルバノミラーを用いたレーザ光走査機構を用いるものが実用化されている。

【特許文献1】 米国特許第5998129号公報**【特許文献2】** 米国特許第6215550B1号公報**【特許文献3】** 米国特許出願公開第2002/0048747A1号明細書**【発明の開示】****【発明が解決しようとする課題】****【0009】**

これらの文献に開示されるように、レーザ光により試料上の必要な領域の輪郭をなぞる方法や必要な領域全面にレーザ光を照射する方法を採用したものでは、レーザ光と試料の

相対位置を変えながらレーザ光を照射するので、つまり、ステージ側またはレーザ光側を動かさなくてはならないため、試料上に必要とする領域が多数散在するような場合には、これら必要な領域の輪郭をレーザ光でなぞるための作業に多大な時間を必要とする。

【0010】

また、試料上の必要な領域の輪郭をなぞるようにレーザ光を照射して必要な領域を切除するような場合、試料自身の蒸発による圧力や、未切除部分の応力により切除の途中で試料が変形し易くなるため、特に、変形し易い生体試料の場合は、必要な領域を正確に切り出すのが難しくなる。このため必要な領域が小さい場合、必要な領域を正確に回収できなくなるばかりか、不純物が多く混じることがあり、その後の試料の解析精度に大きな影響を及ぼすという問題を生じる。

【0011】

本発明は上記事情に鑑みてなされたもので、その目的は、試料の必要な領域を効率良く得ることを可能にするマイクロダイセクション装置およびマイクロダイセクション方法を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0012】

本発明は、ひとつには、試料から必要領域を得るためのマイクロダイセクション装置に向けられており、以下の各項に列記するマイクロダイセクション装置を含んでいる。

【0013】

1. 本発明のマイクロダイセクション装置は、レーザ光を射出するレーザ光源と、前記レーザ光源からのレーザ光を試料に照射するレーザ光照射用光学系とを備え、レーザ光照射用光学系は、試料上の必要領域を反映したパターンを形成可能な能動光学素子を含んでおり、前記能動光学素子に形成される前記パターンにより前記試料に照射されるレーザ光照射領域を設定する。

【0014】

このマイクロダイセクション装置においては、能動光学素子に形成されたパターンに従ってレーザ光が試料に選択的に照射される。

【0015】

2. 本発明の別のマイクロダイセクション装置は、第1項のマイクロダイセクション装置において、前記能動光学素子に形成された前記パターンの像を前記試料上に投影するパターン像投影光学系を更に備えている。

【0016】

このマイクロダイセクション装置においては、レーザ光照射領域を決める能動光学素子のパターンの像を試料上に投影することが可能になる。

【0017】

3. 本発明の別のマイクロダイセクション装置は、第2項のマイクロダイセクション装置において、前記試料の観察像を取得する観察用光学系を更に備えている。

【0018】

このマイクロダイセクション装置においては、試料上に投影された能動光学素子のパターンの像を取得することが可能になる。

【0019】

4. 本発明の別のマイクロダイセクション装置は、第3項のマイクロダイセクション装置において、観察用光学系で取得された観察像を表示する表示手段と、前記能動光学素子に形成されるパターンを設定する情報を入力する入力手段とを有している。

【0020】

このマイクロダイセクション装置においては、能動光学素子のパターンを確認し、必要に応じて変更することが可能になる。

【0021】

5. 本発明の別のマイクロダイセクション装置は、第3項のマイクロダイセクション装置において、観察用光学系で取得された観察像に基づいて前記能動光学素子に形成され

るパターンを設定する制御手段とを有している。

【0022】

このマイクロダイセクション装置においては、能動光学素子のパターンを必要に応じて自動的に形成することが可能になる。

【0023】

6. 本発明の別のマイクロダイセクション装置は、第1項のマイクロダイセクション装置において、前記レーザ光照射用光学系は前記能動光学素子に形成された前記パターンに従って前記必要領域を取り囲む前記試料の部分にレーザ光を選択的に照射し、前記試料に照射されるレーザ光は前記試料を蒸発させるに十分なエネルギー密度を有し、前記試料はレーザ光が照射された部分が蒸発され、前記必要領域が前記試料から切り離される。

【0024】

このマイクロダイセクション装置においては、一度のレーザ光の照射により、複数の必要領域を切り離すことが可能になる。

【0025】

7. 本発明の別のマイクロダイセクション装置は、第1項のマイクロダイセクション装置において、前記レーザ光照射用光学系は、試料の近くに配置される対物レンズと、前記能動光学素子と前記対物レンズの間の光路上に適宜配置されるリレーレンズと、前記リレーレンズを光路に対して着脱するリレーレンズ着脱機構とを含んでおり、前記リレーレンズが光路上に位置する状態においては、前記能動光学素子は前記必要領域を反映したパターンを形成し、前記レーザ光照射用光学系は前記能動光学素子に形成された前記パターンに従って前記必要領域を除いた前記試料の部分にレーザ光を選択的に照射し、前記リレーレンズが光路から外れた状態においては、前記レーザ光照射用光学系は前記対物レンズによりレーザ光のビームを収束して前記試料に照射する。

【0026】

このマイクロダイセクション装置においては、能動光学素子のパターンに従ったレーザ光の照射と、収束されたビームによるレーザ光照射とを切り替えて行うことが可能になる。

【0027】

8. 本発明の別のマイクロダイセクション装置は、第7項のマイクロダイセクション装置において、前記リレーレンズが光路から外れた状態において、前記対物レンズにより収束されて前記試料に照射されるレーザ光のビームは、前記試料を蒸発させるに十分なエネルギー密度を有している。

【0028】

このマイクロダイセクション装置においては、試料を選択的に除去することが可能になる。

【0029】

9. 本発明の別のマイクロダイセクション装置は、第8項のマイクロダイセクション装置において、前記試料上に形成されるレーザ光のビームスポットと前記試料とを相対的に移動させる移動手段を更に備えており、レーザ光のビームスポットは前記移動手段により前記必要領域を含む回収したい領域を取り囲むように前記試料の上を相対的に移動され、前記試料はレーザ光が照射された部分が蒸発され切断され、前記必要領域を含む回収したい領域が前記試料から切り離される。

【0030】

このマイクロダイセクション装置においては、必要領域を含む試料上の所望の領域を切り離すことが可能になる。

【0031】

10. 本発明の別のマイクロダイセクション装置は、第1項のマイクロダイセクション装置において、前記能動光学素子は透過型能動光学素子である。

【0032】

11. 本発明の別のマイクロダイセクション装置は、第1項のマイクロダイセクション

ン装置において、前記能動光学素子は反射型能動光学素子である。

【0033】

本発明は、ひとつには、試料から必要領域を得るためのマイクロダイセクション方法に向けられており、以下の各項に列記するマイクロダイセクション方法を含んでいる。

【0034】

12. 本発明のマイクロダイセクション方法は、試料上の必要領域を反映したパターンを形成可能な能動光学素子を介してレーザ光を前記試料に照射する。

【0035】

このマイクロダイセクション方法においては、能動光学素子に形成されたパターンに従ってレーザ光を試料に選択的に照射することが可能になる。

【0036】

13. 本発明の別のマイクロダイセクション方法は、第12項のマイクロダイセクション方法において、前記能動光学素子に形成された前記パターンに従って前記必要領域を取り囲む前記試料の部分にレーザ光を選択的に照射して蒸発させて、前記必要領域を前記試料から切り離す。

【0037】

このマイクロダイセクション方法においては、一度のレーザ光の照射により、複数の必要領域を切り離すことが可能になる。

【0038】

14. 本発明の別のマイクロダイセクション方法は、第13項のマイクロダイセクション方法において、前記能動光学素子に形成された前記パターンの像を前記試料上に投影し、前記試料の観察像を取得し、取得したの観察像に基づいて前記能動光学素子に形成されるパターンを設定する。

【0039】

このマイクロダイセクション方法においては、レーザ光の照射領域の設定を短時間に行うことが可能になる。

【0040】

15. 本発明の別のマイクロダイセクション方法は、第12項のマイクロダイセクション方法において、前記能動光学素子に形成された前記パターンに従って前記必要領域を除く前記試料の部分にレーザ光を選択的に照射し、このレーザ光の選択的照射は、必要に応じて、位置を変えて繰り返し行い、レーザ光のビームを収束して前記試料に照射しながら、前記試料上に形成されたレーザ光のビームスポットを前記必要領域を含む回収したい領域を取り囲むように前記試料の上を相対的に移動させ、レーザ光が照射された前記試料の部分を蒸発させて、前記必要領域を含む回収したい領域を前記試料から切り離す。

【0041】

このマイクロダイセクション方法においては、必要領域を含む試料上の所望の領域を切り離すことが可能になる。

【発明の効果】

【0042】

本発明によれば、試料の必要な領域を効率良く得ることを可能にするマイクロダイセクション装置およびマイクロダイセクション方法が提供される。

【発明を実施するための最良の形態】

【0043】

以下、本発明の実施形態を図面に従い説明する。

【0044】

第一実施形態

図1は、本発明が適用される倒立顕微鏡を用いたマイクロダイセクション装置の概略構成を示している。

【0045】

図1において、試料4は、試料ホルダ、例えば、スライドガラス51面に固定されてい

る。スライドガラス 51 は、図示しないが電動または手動により駆動される X Y ステージ上に載置され、試料 4 の任意の位置を顕微観察できるようにしている。

【0046】

マイクロダイセクション装置は更に、レーザ光を射出するレーザ光源 14 と、レーザ光源 14 からのレーザ光を試料 4 に照射するレーザ光照射用光学系とを備えている。レーザ光照射用光学系は、コリメータレンズ 15 と、能動光学素子 12 と、リレーレンズ 13 と、レーザ光用の対物レンズ 3 とを含んでいる。能動光学素子 12 は透過型能動光学素子である。透過型能動光学素子 12 は、これに限定されないが、例えば、透過型液晶基板で構成される。

【0047】

レーザ光源 14 は、所定波長の UV レーザ光を射出する。コリメータレンズ 15 は、レーザ光源 14 から射出されるレーザ光のビーム径を広げる。

【0048】

レーザ光源 14 から射出されたレーザ光のビームは、コリメータレンズ 15 により、透過型液晶基板 12 のほぼ全体を照射できる径に広げられる。コリメータレンズ 15 を透過したレーザ光は、透過型液晶基板 12 に導かれる。透過型液晶基板 12 のパターンを透過したレーザ光は、リレーレンズ 13、対物レンズ 3 を透過して試料 4 上に照射される。

【0049】

試料 4 は、パターンを介して照射されるレーザ光により蒸発され切断される。そして、試料 4 から切り離された部分は、試料回収チューブ 16 内に落とし込まれ回収される。

【0050】

マイクロダイセクション装置は更に、試料 4 の観察像を取得する観察用光学系と、観察のために試料 4 を照明する照明用光学系とを有している。照明用光学系は、試料観察用の光源 1 と、ハーフミラー 2 と、レーザ光用の対物レンズ 3 とを含んでいる。観察用光学系は、観察用の対物レンズ 6 と、反射ミラー 7 と、結像レンズ 8 と、撮像手段である撮像素子 9 とを含んでいる。撮像素子 9 は、これに限定されないが、例えば、CCD カメラで構成される。

【0051】

試料観察用の光源 1 から発せられる光は、ハーフミラー 2 で反射し、レーザ光用の対物レンズ 3 を透過して試料 4 上に照射される。

【0052】

対物レンズ 6 はスライドガラス 51 の下方に配置されている。対物レンズ 6 には、試料 4 を透過した光が入射される。そして、対物レンズ 6 に入射した光は、反射ミラー 7 で反射し、結像レンズ 8 を透過して、CCD カメラ 9 の撮像面に結像される。

【0053】

マイクロダイセクション装置は更に、透過型液晶基板 12 に形成されたパターンの像を試料 4 に投影するパターン像投影光学系を備えている。パターン像投影光学系は、パターン像投影用の光源 10 と、ハーフミラー 11 と、透過型液晶基板 12 と、リレーレンズ 13 と、対物レンズ 3 とを含んでいる。

【0054】

パターン像投影用の光源 10 から発せられる光は、ハーフミラー 11 で反射し、能動光学素子である透過型能動光学素子としての透過型液晶基板 12 に導かれる。

【0055】

透過型液晶基板 12 は、後述する制御装置 5 からの制御信号 21 により、試料 4 上の切り離し領域を設定する高解像度のパターン（レーザ光照射領域）を映し出し、このパターンに従って光源 10 からの光を透過する。

【0056】

そして、透過型液晶基板 12 を透過した光（パターン像）は、リレーレンズ 13、ハーフミラー 2、レーザ光用の対物レンズ 3 を透過して試料 4 上に縮小して投影される。また、試料 4 を透過したパターン像は、対物レンズ 6 を透過し、反射ミラー 7 で反射し、結像

レンズ 8 を透過して CCD カメラ 9 の撮像面に結像される。

【0057】

ハーフミラー 2 とハーフミラー 11 は、レーザ光の光路上に配置されるが、レーザ光源 14 により試料 4 にレーザ光を照射する時は、光路から外されるとよい。こうすれば、レーザ光がハーフミラー 2 とハーフミラー 11 で吸収されることがなくなり、レーザ光のパワーを有効に利用することができる。

【0058】

CCD カメラ 9 には、制御手段として、制御装置 5 が接続されている。制御装置 5 には、上述した透過型液晶基板 12 の他に、表示手段としてのモニタ 17、入力手段としての操作部 18 が接続されている。

【0059】

操作部 18 には、マウスやジョイスティックなどが用いられている。

【0060】

制御装置 5 は、CCD カメラ 9 から出力される画像信号 19 を取り込み、モニタ 17 に表示させる。また、制御装置 5 は、操作部 18 でのマウスやジョイスティックの操作に応じた操作情報 20 によりモニタ 17 上でカーソルを移動させるとともに、このカーソルの移動により試料 4 上の回収したい（必要とする）領域を表わすパターンを設定する。さらに、制御装置 5 は、制御信号 21 を透過型液晶基板 12 に出力し、モニタ 17 上に設定した試料 4 上の切り離し領域を表わすパターンを透過型液晶基板 12 上に映し出させる。

【0061】

次に、このように構成した実施形態の動作を説明する。

【0062】

まず、スライドガラス 51 に試料 4 を固定する。そして、スライドガラス 51 を XY ステージ上に載置する。

【0063】

次に、試料観察用の光源 1 をオンにする。光源 1 から発せられる光は、ハーフミラー 2 で反射し、レーザ光用の対物レンズ 3 を透過して試料 4 上に照射される。試料 4 を透過した光は、対物レンズ 6 を透過し、反射ミラー 7 で反射し、結像レンズ 8 を透過して CCD カメラ 9 の撮像面に結像される。そして、CCD カメラ 9 で撮像された試料 4 の観察像は、画像信号 19 として制御装置 5 に送られ、モニタ 17 に表示される。

【0064】

図 2 (a) は、モニタ 17 に表示される試料 4 の観察像の一例を示している。ここで、試料 4 上の解析のために回収したい領域を 4 a、それ以外の不要な領域を 4 b とする。ここで、回収したい領域 4 a は、解析のために必要な領域と一致している。

【0065】

操作者は、モニタ 17 上の観察像の画面を見ながら、操作部 18 でマウスやジョイスティックを操作し、モニタ 17 上でカーソルを移動させて、試料 4 上の回収したい領域 4 a と、それ以外の領域 4 b との境界部分、つまり回収したい領域 4 a の輪郭をなぞる。

【0066】

すると、モニタ 17 上には、試料 4 上で回収したい領域 4 a を表わすパターンが設定される。このパターンの情報は、制御装置 5 より、制御信号 21 として透過型液晶基板 12 に送られる。これにより、透過型液晶基板 12 上には、モニタ 17 上で設定された試料 4 上の回収したい領域 4 a を反映したパターン（レーザ光照射領域）が形成される、つまり映し出される。

【0067】

次に、パターン像投影用の光源 10 をオンにするとともに、試料観察用の光源 1 の明るさを落す。

【0068】

光源 10 から発せられる光は、ハーフミラー 11 で反射し、透過型液晶基板 12 に導かれ、透過型液晶基板 12 上に映し出されたパターン部分を透過する。

【0069】

透過型液晶基板12を透過した光（パターン像）は、リレーレンズ13、ハーフミラー2、レーザ光用の対物レンズ3を透過して試料4上に縮小して投影される。試料4を透過したパターン像は、対物レンズ6を透過し、反射ミラー7で反射し、結像レンズ8を透過してCCDカメラ9の撮像面に結像される。

【0070】

そして、CCDカメラ9で撮像されたパターン像は、画像信号19として制御装置5に送られ、モニタ17に表示される。この場合、試料観察用の光源1の明るさを落しているため、モニタ17上のパターン像は、明瞭に表示される。

【0071】

図2（b）は、モニタ17に表示されるパターン像の一例を示している。ここでは、レーザ光を透過するためのパターン像を4cで示している。

【0072】

操作者は、モニタ17上のパターン像4cの形状を参照して、試料4上の領域4aを回収するのに最適なパターン形状であるかを判断する。

【0073】

この段階では、必要があれば、操作部18を操作しモニタ17上でカーソルを移動させることで、パターン像4cの形状の修正を行うことができる。

【0074】

パターン形状が確定したところで、レーザ光源14をオンにする。

【0075】

レーザ光源14より発せられるレーザ光のビームは、コリメータレンズ15により透過型液晶基板12のほぼ全体を照射できる径に広げられた後、透過型液晶基板12に導かれる。

【0076】

透過型液晶基板12のパターンを透過したレーザ光は、リレーレンズ13、対物レンズ3を透過して試料4上に照射される。これにより、試料4は、レーザ光が照射されるパターン形状に沿った部分が蒸発され、回収したい領域4aが切り離される。

【0077】

その後、パターン像投影用の光源10をオフにし、試料観察用の光源1の明るさを元に戻すと、再び試料4の観察像がモニタ17に表示される。図2（c）は、領域4aを切り離した状態にある試料4の観察像を示している。ここでは、試料4上の解析のために回収したい領域を4a、それ以外の不要な領域を4b、パターン形状に沿ったレーザ光の照射により蒸発された試料除去部を4dで示している。

【0078】

そして、試料4から切り離された領域4aは、試料回収チューブ16内に落とし込まれて回収される。

【0079】

なお、試料4より切り離された領域4aの回収方法については、例えば、上述した米国特許第5998129号公報、米国特許出願公開第2002/0048747A1号明細書に開示された方法を始め、本出願人が先に出願した特願平2002-14643号明細書に開示された方法などを採用することができる。

【0080】

従って、このようにすれば、試料4の観察画像上で必要とする複数の領域の輪郭をなぞり、それぞれの領域を設定し、これら必要とする領域に対し透過型液晶基板12によりレーザ光照射領域を設定し、レーザ光を照射することで、これらの領域を一度に切り出せるようにしたので、従来の試料上の必要とする複数の領域について、それぞれの領域の輪郭をレーザ光と試料の相対位置を変えながらレーザ光を照射して切り出すようにしたもの比べ、試料上の必要とする領域の切り出し作業を簡単に、効率よく行うことができ、作業時間の大幅な短縮を図ることができる。

【0081】

また、透過型液晶基板12により試料4上に設定されたレーザ光照射領域に対してレーザ光を照射するのみで、これら領域を切り出せるようにしたので、従来の試料の必要な領域が小さい場合、輪郭をなぞる途中で試料がずれて、試料の必要な領域が正確に切り出せなかったものと比べ、必要な領域が小さい場合にも、これら領域を正確に切り出すことができる。これにより、切り出しの途中で不純物が混じるようなことがなくなり、その後の試料の解析を高い精度で行うことができる。

【0082】

第一変形例

第一実施形態では、レーザ光用の対物レンズ3を有するレーザ照射用の光学系と観察用の対物レンズ6を有する観察用の光学系を別々に用意したが、この第一変形例では、例えば、図1と同一部分には同符号を付した図3に示すように、これらレーザ光照射用の光学系と観察用の光学系を共有する構成をとっている。

【0083】

この構成では、レーザ光照射用光学系は、コリメータレンズ15と、ハーフミラー22と、透過型液晶基板12と、リレーレンズ13と、観察用の対物レンズ6とを含む。照明用光学系は、試料観察用の光源1と、ハーフミラー2と、観察用の対物レンズ6とを含む。観察用光学系は、観察用の対物レンズ6と、リレーレンズ13と、透過型液晶基板12と、反射ミラー7と、結像レンズ8と、CCDカメラ9とを含む。パターン像投影光学系は、パターン像投影用の光源10と、ハーフミラー11と、透過型液晶基板12と、リレーレンズ13と、観察用の対物レンズ6とを含む。

【0084】

試料観察用の光源1から発せられる光は、ハーフミラー2で反射し、対物レンズ6を透過して試料4上に照射される。試料4で反射した光は、対物レンズ6、ハーフミラー2、リレーレンズ13、透過型液晶基板12、ハーフミラー11、22を透過し、反射ミラー7で反射し、結像レンズ8を透過してCCDカメラ9の撮像面に結像される。

【0085】

また、パターン像投影用の光源10から発せられる光は、ハーフミラー11で反射し、透過型液晶基板12、リレーレンズ13、対物レンズ6を透過して試料4上に照射される。試料4で反射した光は、光源1から発せられる光の場合と同様な光路を通してCCDカメラ9の撮像面に結像される。

【0086】

そして、レーザ光源14から発せられるレーザ光は、コリメータレンズ15を透過してハーフミラー22で反射し、透過型液晶基板12、リレーレンズ13、対物レンズ6を透過して試料4上に照射される。

【0087】

なお、この第一変形例では、試料4より切り離された領域は、試料回収用接着キャップ23を用いて上述した米国特許第6215550B1号公報に開示された方法により回収される。

【0088】

このようにしても、第一実施形態と同様な効果を期待でき、さらに、観察用とレーザ光用で対物レンズを共有できるので、構成を簡単にできる。

【0089】

第二変形例

第一実施形態では、倒立顕微鏡を用いたマイクロダイセクション装置について述べたが、この第二変形例では、例えば、図1と同一部分には、同符号を付した図4に示すように、正立顕微鏡を用いたマイクロダイセクション装置にも適用できる。

【0090】

この構成では、レーザ光照射用光学系は、コリメータレンズ15と、透過型液晶基板12と、リレーレンズ13と、観察用の対物レンズ6とを含む。照明用光学系は、試料観察

用の光源 1 と、ハーフミラー 2 と、観察用の対物レンズ 6 とを含む。観察用光学系は、観察用の対物レンズ 6 と、ハーフミラー 2 4 と、結像レンズ 8 と、CCD カメラ 9 とを含む。パターン像投影光学系は、パターン像投影用の光源 10 と、ハーフミラー 11 と、透過型液晶基板 12 と、リレーレンズ 13 と、観察用の対物レンズ 6 とを含む。

【0091】

試料観察用の光源 1 から発せられる光は、ハーフミラー 2 で反射し、対物レンズ 6 を透過して試料 4 上に照射される。試料 4 で反射した光は、対物レンズ 6、ハーフミラー 2 を透過し、ハーフミラー 2 4 で反射し、結像レンズ 8 を透過して CCD カメラ 9 の撮像面に結像される。

【0092】

また、パターン像投影用の光源 10 から発せられる光は、ハーフミラー 11 で反射し、透過型液晶基板 12、リレーレンズ 13、対物レンズ 6 を透過して試料 4 上に照射される。試料 4 で反射した光は、光源 1 から発せられる光の場合と同様な光路を通過して CCD カメラ 9 の撮像面に結像される。

【0093】

そして、レーザ光源 14 から発せられるレーザ光は、コリメータレンズ 15、透過型液晶基板 12、リレーレンズ 13、対物レンズ 6 を透過して試料 4 上に照射される。

【0094】

なお、この第二変形例でも、試料 4 より切り離された領域は、試料回収用接着キャップ 23 を用いて上述した米国特許第 6215550B1 号公報に開示された方法により回収される。

【0095】

このようにしても、第一実施形態と同様な効果を期待できる。

【0096】

第三変形例

第一実施形態では、操作者がモニタ 17 上の試料 4 の観察像を見ながら、操作部 18 でマウスやジョイスティックを操作してモニタ 17 上に回収したい領域を表わすパターンを形成するようにしたが、例えば、試料 4 上での必要部と不要部の判断条件を定式化できれば、試料 4 の観察像から試料 4 上で回収したい領域を表わすパターンを自動的に形成することができ、このパターン情報により透過型液晶基板 12 上にも試料 4 上の回収したい領域を表わすパターンを自動的に映し出すことができる。

【0097】

このようにすれば、操作者が試料 4 の観察像を見ながら領域を選択するという作業を省くことができるので、作業の簡易化と作業時間の大幅な短縮化を実現することができる。

【0098】

第二実施形態

次に、本発明の第二実施形態を説明する。

【0099】

図 5 は、本発明が適用される倒立顕微鏡を用いたマイクロダイセクション装置の概略構成を示すもので、図 1 と同一部分には、同符号を付している。

【0100】

本実施形態では、レーザ光照射用光学系は、コリメータレンズ 15 と、反射ミラー 24 1 と、能動光学素子 25 と、反射ミラー 24 2 と、リレーレンズ 13 と、レーザ光用の対物レンズ 3 とを含む。能動光学素子 25 は反射型能動光学素子である。反射型能動光学素子 25 は、これに限定されないが、例えば、透過型液晶基板で構成される。反射型能動光学素子 25 は、これに限定されないが、例えば、マイクロミラーアレイで構成される。

【0101】

マイクロミラーアレイ 25 は、二次元的に配列された多数の小型ミラーを有している。1つの小型ミラーは、16 μ m 角程度の大きさを持ち、1つの画素に対応している。複数の小型ミラーはそれぞれ静電電界作用により所定の傾き角で回転動作され得る。制御装置

5からの制御信号21によりそれぞれの画素に対応する小型ミラーの傾き角を制御することで、試料4上の切り離し領域を表わす反射パターン（レーザ光照射領域）が形成される。

【0102】

照明用光学系は、試料観察用の光源1と、ハーフミラー2と、観察用の対物レンズ6を含む。観察用光学系は、観察用の対物レンズ6と、反射ミラー7と、結像レンズ8と、CCDカメラ9を含む。パターン像投影光学系は、パターン像投影用の光源10と、ハーフミラー11と、反射ミラー241と、マイクロミラーアレイ25と、反射ミラー242と、リレーレンズ13と、レーザ光用の対物レンズ3を含む。

【0103】

試料観察用の光源1から発せられる光は、ハーフミラー2で反射し、観察用の対物レンズ6を透過して試料4に照射される。試料4を反射した光は、対物レンズ6に入射し、ハーフミラー2を透過し、反射ミラー7で反射し、結像レンズ8を透過してCCDカメラ9の撮像面に結像される。

【0104】

また、パターン像投影用の光源10から発せられる光は、ハーフミラー11、反射ミラー241で反射し、マイクロミラーアレイ25に導かれる。マイクロミラーアレイ25には、制御装置5からの制御信号21により、試料4上の切り離し領域を設定する反射パターン（レーザ光照射領域）が形成される。マイクロミラーアレイ25は、この反射パターンに従って光源10からの光を反射する。

【0105】

マイクロミラーアレイ25を反射した光（パターン像）は、反射ミラー242で反射し、リレーレンズ13、レーザ光用の対物レンズ3を透過して試料4上に縮小して投影される。また、試料4を透過したパターン像は、対物レンズ6、ハーフミラー2を透過し、反射ミラー7で反射し、結像レンズ8を透過してCCDカメラ9の撮像面に結像される。

【0106】

また、レーザ光源14からのレーザ光のビームは、コリメータレンズ15によりマイクロミラーアレイ25のほぼ全体を照射できる径に広げられる。コリメータレンズ15を透過したレーザ光は、反射ミラー241を介してマイクロミラーアレイ25に導かれる。マイクロミラーアレイ25には、制御装置5からの制御信号21により、試料4上の切り離し領域を設定する反射パターン（レーザ光照射領域）が形成される。マイクロミラーアレイ25は、この反射パターンに従って光源10からの光を反射する。

【0107】

マイクロミラーアレイ25の反射パターンで反射したレーザ光は、反射ミラー242で反射し、リレーレンズ13、対物レンズ3を透過して試料4上に照射される。試料4は、パターンを介して照射されるレーザ光により蒸発され切断される。

【0108】

その他は、図1と同様である。

【0109】

このような構成において、まず、スライドガラス51に試料4を固定する。そして、スライドガラス51をXYステージ上に載置する。

【0110】

次に、試料観察用の光源1をオンにする。光源1から発せられる光は、ハーフミラー2で反射し、対物レンズ6を透過して試料4上に照射される。試料4で反射した光は、対物レンズ6を透過し、反射ミラー7で反射し、結像レンズ8を透過してCCDカメラ9の撮像面に結像される。そして、CCDカメラ9で撮像された試料4の観察像は、画像信号19として制御装置5に送られ、モニタ17に表示される。

【0111】

ここで、モニタ17上には、試料4の観察像として、図2(a)に示すように試料4上の解析のために回収したい領域4aと、それ以外の不要な領域4bが表示される。ここで

、回収したい領域 4 a は、解析のために必要な領域と一致している。

【0112】

操作者は、モニタ 17 上の観察像の画面を見ながら、操作部 18 でマウスやジョイスティックを操作し、モニタ 17 上でカーソルを移動させて、試料 4 上の回収したい領域 4 a と、それ以外の領域 4 b との境界部分、つまり回収したい領域 4 a の輪郭をなぞる。

【0113】

すると、モニタ 17 上には、試料 4 上で回収したい領域 4 a を表わすパターンが設定される。このパターンの情報は、制御装置 5 より、制御信号 21 としてマイクロミラーアレイ 25 に送られる。これにより、マイクロミラーアレイ 25 上には、モニタ 17 で形成した試料 4 上の回収したい領域 4 a を表わす反射パターン（レーザ光照射領域）が設定される。

【0114】

この状態で、パターン像投影用の光源 10 をオンにするとともに、試料観察用の光源 1 の明るさを落す。

【0115】

光源 10 から発せられる光は、ハーフミラー 11 と反射ミラー 241 で反射し、マイクロミラーアレイ 25 に導かれ、このマイクロミラーアレイ 25 を反射した光（パターン像）は、反射ミラー 242 で反射し、リレーレンズ 13、レーザ光用の対物レンズ 3 を透過して試料 4 上に縮小して投影される。また、試料 4 を透過したパターン像は、対物レンズ 6 を透過し、反射ミラー 7 で反射し、結像レンズ 8 を透過して CCD カメラ 9 の撮像面に結像される。

【0116】

そして、CCD カメラ 9 で撮像されたパターン像は、画像信号 19 として制御装置 5 に送られ、モニタ 17 に表示される。この場合、試料観察用の光源 1 の明るさを落しているので、モニタ 17 上のパターン像は、明瞭に表示される。

【0117】

ここで、モニタ 17 上には、パターン像として、図 2 (b) に示すようにレーザ光を透過するためのパターン像 4 c が表示される。

【0118】

操作者は、モニタ 17 上のパターン像 4 c の形状を参照して、試料 4 上の領域 4 a を回収するのに最適なパターン形状であるかを判断する。

【0119】

この段階では、必要があれば、操作部 18 を操作しモニタ 17 上でカーソルを移動させることで、パターン像 4 c の形状の修正を行うことができる。

【0120】

パターン形状が確定したところで、レーザ光源 14 をオンにする。

【0121】

レーザ光源 14 より発せられるレーザ光のビームは、コリメータレンズ 15 によりマイクロミラーアレイ 25 のほぼ全体を照射できる径に広げられた後、反射ミラー 241 を介してマイクロミラーアレイ 25 に導かれる。

【0122】

マイクロミラーアレイ 25 の反射パターンで反射したレーザ光は、反射ミラー 242 で反射し、リレーレンズ 13、対物レンズ 3 を透過して試料 4 上に照射される。これにより、試料 4 は、レーザ光が照射されるパターン形状に沿った部分が蒸発され、回収したい領域 4 a が切り離される。

【0123】

その後、パターン像投影用の光源 10 をオフにし、試料観察用の光源 1 の明るさを元に戻すと、再び試料 4 の観察像がモニタ 17 に表示される。

【0124】

ここで、領域 4 a を切り離した状態にある試料 4 の観察像として、図 2 (c) に示すよ

うに、試料 4 上の解析のために回収したい領域 4 a、それ以外の不要な領域 4 b、パターン形状に沿ったレーザ光の照射により蒸発された試料除去部 4 d が表示される。

【0125】

そして、試料 4 から切り離された領域 4 a は、図示しない試料回収チューブ内に落とし込まれて回収される。

【0126】

この場合も、試料 4 より切り離された領域 4 a の回収方法として、例えば、上述した米国特許第 5998129 号公報、米国特許出願公開第 2002/0048747 A1 号明細書に開示された方法を始め、本出願人が先に出願した特願平 2002-14643 号明細書に開示された方法などを採用することができる。

【0127】

従って、このようにしても、試料 4 の観察画像上で必要とする複数の領域の輪郭をなぞり、それぞれの領域を指定し、これら必要とする領域をマイクロミラーアレイ 25 を介して試料 4 上に設定するとともに、レーザ光を照射することにより、これらの領域を一度に切り離すようにしたので、第一実施形態で述べたと同様な効果を期待できる。

【0128】

また、マイクロミラーアレイ 25 を用いることにより、第一実施形態で述べた透過型液晶基板 12 を用いるより UV レーザ光の損失を小さくできるので、必要とする領域の切り離しを効率よく行うことができる。

【0129】

変形例

第一実施形態では、倒立顕微鏡を用いたマイクロダイセクション装置について述べたが、この変形例では、例えば、図 1 と同一部分には、同符号を付した図 6 に示すように、正立顕微鏡を用いたマイクロダイセクション装置にも適用できる。

【0130】

この構成では、レーザ光照射用光学系は、コリメータレンズ 15 と、反射ミラー 241 と、マイクロミラーアレイ 25 と、反射ミラー 242 と、リレーレンズ 13 と、観察用の対物レンズ 6 とを含む。照明用光学系は、試料観察用の光源 1 と、ハーフミラー 2 と、観察用の対物レンズ 6 とを含む。観察用光学系は、観察用の対物レンズ 6 と、ハーフミラー 24 と、結像レンズ 8 と、CCD カメラ 9 とを含む。パターン像投影光学系は、パターン像投影用の光源 10 と、ハーフミラー 11 と、反射ミラー 241 と、マイクロミラーアレイ 25 と、反射ミラー 242 と、リレーレンズ 13 と、レーザ光用の対物レンズ 3 とを含む。

【0131】

試料観察用の光源 1 から発せられる光は、ハーフミラー 2 で反射し、対物レンズ 6 を透過して試料 4 上に照射される。試料 4 で反射した光は、対物レンズ 6、ハーフミラー 2 を透過し、ハーフミラー 24 で反射し、結像レンズ 8 を透過して CCD カメラ 9 の撮像面に結像される。

【0132】

また、パターン像投影用の光源 10 から発せられる光は、ハーフミラー 11、反射ミラー 241 で反射し、マイクロミラーアレイ 25 の反射パターンで反射した光（パターン像）は、反射ミラー 242 で反射し、リレーレンズ 13、ハーフミラー 24、2、対物レンズ 6 を透過して試料 4 上に照射される。試料 4 で反射した光は、光源 1 から発せられる光の場合と同様な光路を通して CCD カメラ 9 の撮像面に結像される。

【0133】

また、レーザ光源 14 から発せられるレーザ光は、コリメータレンズ 15 を透過し、反射ミラー 241 で反射し、マイクロミラーアレイ 25 に導かれる。マイクロミラーアレイ 25 の反射パターンで反射した光（パターン像）は、反射ミラー 242 で反射し、リレーレンズ 13、対物レンズ 6 を透過して試料 4 上に照射される。

【0134】

なお、この第二変形例では、試料 4 より切り離された領域は、試料回収チューブ 16 内に落とし込まれて回収される。

【0135】

このようにしても、第二実施形態と同様な効果を期待できる。

【0136】

第三実施形態

次に、本発明の第三実施形態を説明する。

【0137】

本実施形態は、能動光学素子に形成されたパターンに従って試料にレーザ光を選択的に照射して DNA 解析に不要な試料の部分の DNA を破壊するマイクロダイセクション装置である。

【0138】

図 7 は、本発明の第三実施形態による反射型能動光学素子を用いた正立顕微鏡型のマイクロダイセクション装置の概略構成を示している。図 7 において、図 6 と同一の参照符号が付された部分は同等の部材を示している。

【0139】

本実施形態のマイクロダイセクション装置は、基本的に、図 6 に示された装置（第二実施形態の変形例）に対して、リレーレンズをレーザ光の光路に対して着脱可能にした装置構成となっている。

【0140】

本実施形態のマイクロダイセクション装置の装置構成は、第二実施形態の変形例の装置と殆ど同じであるので、以下では、主に相違部分に重点をおいて説明する。

【0141】

図 7 において、試料 41 は、試料ホルダであるスライドガラス 51 に固定されている。スライドガラス 51 は、電動または手動により駆動される XY ステージ 61 の上に載置されている。

【0142】

本実施形態のマイクロダイセクション装置では、レーザ光照射用光学系は、コリメータレンズ 15 と反射ミラー 241 とマイクロミラーアレイ 25 と反射ミラー 242 と対物レンズ 6 とに加えて、リレーレンズ 131 と、リレーレンズ 131 を光路に対して着脱するリレーレンズ着脱機構 132 とを含んでいる。

【0143】

リレーレンズ着脱機構 132 はリレーレンズ 131 を移動可能に支持しており、マイクロミラーアレイ 25 と対物レンズ 6 の間のレーザ光の光路に対してリレーレンズ 131 を着脱することができる。つまり、リレーレンズ着脱機構 132 は、必要に応じて、リレーレンズ 131 を光路上に配置したり、リレーレンズ 131 を光路上から外したりすることが可能である。

【0144】

マイクロミラーアレイ 25 は、二次元的に配置された多数の小型ミラーを有しており、小型ミラーは制御装置 5 により反射角度が切り替え可能である。これにより、マイクロミラーアレイ 25 は、試料 41 の解析に必要な領域を反映したパターン、言い換えれば、レーザ光が照射される試料 41 の領域を設定する反射パターンを形成可能である。

【0145】

レーザ光源 14 から射出されたレーザ光のビームはコリメータレンズ 15 に入射し、マイクロミラーアレイ 25 のほぼ全体を照射する径の略平行ビームに変えられる。コリメータレンズ 15 からのレーザ光のビームは、反射ミラー 241 で反射され、マイクロミラーアレイ 25 に入射する。マイクロミラーアレイ 25 で反射されたレーザ光は、反射ミラー 242 で反射され、対物レンズ 6 に方向付けられる。

【0146】

リレーレンズ 131 が光路上に位置する状態においては、対物レンズ 6 に向かうレーザ

光の略平行ビームは、図8(a)に示されるように、リレーレンズ13で一旦収束された後に対物レンズ6に入射し、対物レンズ6により再び略平行ビームに変えられて、試料41の比較的広い範囲を照明する。

【0147】

この状態では、マイクロミラーアレイ25は、試料41の解析に必要な領域を反映したパターン、言い換えれば、レーザ光が照射される試料41の領域を設定する反射パターンを形成する。

【0148】

レーザ光照射用光学系は、マイクロミラーアレイ25に形成された反射パターンの像を試料41に縮小投影する、つまり、マイクロミラーアレイ25に形成されたパターンに従って必要な領域を除いた試料41の部分にレーザ光を選択的に照射する。

【0149】

反射パターンの投影倍率は、リレーレンズ13と対物レンズ6によって決まる。リレーレンズ13は、試料41に照射されたレーザ光が、試料面の単位面積あたりで、試料を蒸発させるには不十分だがDNAを破壊するには十分なエネルギーを持つように設計されている。このため、試料41に照射されるレーザ光は、試料を蒸発させる程のエネルギー密度は持たないが、DNAを破壊するに十分なエネルギー密度を持つ。

【0150】

本実施形態のマイクロダイセクション装置では、レーザ光照射用光学系は、高々、DNAを破壊するに十分であればよいエネルギー密度で試料41にレーザ光を照射すればよい。ため、つまり、試料41を蒸発させる程の高いエネルギー密度でレーザ光を照射する必要がないため、第二実施形態の変形例の装置と比較して、より広範囲な領域にレーザ光を照射することができる。

【0151】

マイクロミラーアレイ25の一つの小型ミラーは、試料41に投影されるマイクロミラーアレイ25に形成されたパターンの像の一つの画素に対応している。マイクロミラーアレイ25は、小型ミラーの反射角度を切り替えることにより、レーザ光の照射を試料41に投影されるパターン像の画素単位でオンオフ制御できる。つまり、レーザ光が照射される試料41の領域を任意に設定することができる。

【0152】

マイクロミラーアレイ25に形成される反射パターンは、DNA解析に必要な領域を除いた試料41の部分にレーザ光を照射するパターンである。従って、試料41は、レーザ光が照射された部分、すなわち、DNA解析に必要な領域を除いた試料41の部分のDNAが破壊される。

【0153】

一方、リレーレンズ131が光路から外れた状態においては、対物レンズ6に向かうレーザ光の略平行ビームは、図8(b)に示されるように、ほぼ平行ビームで対物レンズ6に入射し、対物レンズ6により収束され、試料41の比較的狭い範囲を照明する。

【0154】

この状態では、マイクロミラーアレイ25は、好ましくは、レーザ光が照射される試料41の領域を設定する反射パターンを形成しない。

【0155】

試料41に収束されて照射されるレーザ光は、試料面の単位面積あたりで試料41を蒸発させるに十分なエネルギー、つまり、試料41を蒸発させるに十分なエネルギー密度を持つ。

【0156】

試料41は、レーザ光が収束されて照射された部分が蒸発して切断される。

【0157】

次に、本装置を用いたマイクロダイセクションの方法を一般的な操作手順に沿って説明する。

【0158】

スライドガラス 51 に固定された試料 41 を顕微鏡の X Y ステージ上に置き、試料観察用光源 1 の電源を入れる。試料観察用光源 1 によって照明された試料 41 の顕微観察像は CCD カメラ 9 に撮像され、画像信号 19 は制御装置 5 を介してモニタに映し出される。

【0159】

図 9 (a) は、試料の観察像の一例を示している。ここで、符号 41 a は解析したい試料 41 の必要な領域を示し、符号 41 b はそれ以外の不要な領域を示している。必要な領域 41 a は、例えば、腫瘍や癌化した細胞などである。

【0160】

操作者は、この像をモニタ 17 で見て、操作部 18 により制御装置 5 に採取する試料 41 の必要な領域 41 a と不要な領域 41 b との境界を入力し、レーザ光を照射して DNA を破壊する領域を指定する。操作部 18 は、マウスやジョイスティックなどで、モニタ 17 上のカーソルを操作してレーザ照射範囲を指定できる。

【0161】

制御装置 5 は、操作部 18 により入力された操作情報 20 に基づき、レーザ光を照射する領域のみ反射するようにマイクロミラーアレイ 25 に制御信号を出力する。その結果、マイクロミラーアレイ 25 上には、試料 41 の必要な領域 41 a と不要な領域 41 b を反映したパターンが形成される。

【0162】

操作者が操作部 18 を操作して DNA を破壊する領域を指定する代わりに、試料 41 の必要な領域 41 a と不要な領域 41 b の判断条件を予め定式化しておき、試料 41 の観察像から、試料 41 の必要な領域 41 a と不要な領域 41 b を反映したパターンを制御装置 5 が自動的に生成するようにしてもよい。

【0163】

図 9 (b) は、マイクロミラーアレイ 25 に形成されたパターンを示している。ここで、符号 25 a はレーザ光をレーザ光照射用光学系の光路に沿って反射する領域を示し、符号 25 b はレーザ光をレーザ光照射用光学系の光路に沿って反射しない領域を示している。

【0164】

ここで、パターン像投影用光源 10 をオンにし、試料観察用光源 1 の明るさを小さくすると、パターン像投影用光源 10 によって試料 41 に投影されたマイクロミラーアレイ 25 のパターンの像がモニタ 17 で観察できる。図 9 (c) は、マイクロミラーアレイ 25 のパターンの像を示している。ここで、符号 41 c はレーザ光が照射される領域を示し、符号 41 d はレーザ光が照射されない領域を示している。

【0165】

この段階で、必要があれば、操作部 18 でパターンの形状を修正してもよい。

【0166】

パターンの形状が決まれば、不要な領域にレーザ光を照射して DNA を破壊する。

【0167】

図 9 (d) は、レーザ光を照射した後の試料の観察像を示している。ここで、符号 41 e はレーザ光の照射により DNA が破壊された領域を示している。

【0168】

次に、X Y ステージ 61 により試料 41 を移動して試料 41 の他の部分に対して、マイクロミラーアレイ 25 のパターンに従ったレーザ光の照射を同様に行う。試料 41 の移動とマイクロミラーアレイ 25 のパターンに従ったレーザ光の照射は、所望の範囲内の不要な領域 41 b の DNA が破壊されるように、必要な回数だけ繰り返し行う。ここで、所望の範囲とは、必要な領域 41 a を含む回収したい領域を含む範囲である。

【0169】

図 9 (e) は、マイクロミラーアレイ 25 のパターンに従ってレーザ光が照射される範囲に比べて広範な試料 41 の領域を示している。また、図 9 (f) は、図 9 (e) に示さ

れた領域に対して、マイクロミラーアレイ 25 のパターンに従ったレーザ光の照射を位置を変えて四回行った後の試料 41 を示している。

【0170】

次に、リレーレンズ着脱機構 132 により、リレーレンズ 13 を光路から外す。この状態では、図 8 (b) に示されるように、レーザ光は対物レンズ 6 で収束されて試料 41 に照射される。試料 41 に照射されるレーザ光のビームは、試料 41 を蒸発させるに十分なエネルギーを持つ。

【0171】

レーザ光を試料 41 に照射しながら XY ステージ 61 により試料 41 を移動させて、DNA が破壊された領域 41e の中で、必要な領域 41a を含む回収したい領域を取り囲むように、例えば円形に、レーザ光のビームスポットを移動させる。これにより、レーザ光が照射された試料の部分を蒸発させて、必要な領域 41a を含む回収したい領域を試料 41 から切り離す。

【0172】

図 9 (g) は、必要な領域 41a を含む回収したい領域が切り離された試料 41 を示している。ここで、符号 41f はレーザ光の照射により試料 41 が蒸発した部分を示し、符号 41g は必要な領域 41a を含む回収したい領域を示している。本実施形態では、解析に必要な領域 41a は回収したい領域 41g と一致せず、回収したい領域 41g は解析に必要な領域 41a を含んでいる。

【0173】

図 10 (a) は、本発明の第三実施形態によるマイクロダイセクションを行う前の試料 41 を示し、図 10 (b) は、本発明の第三実施形態によるマイクロダイセクションを行った後の試料 41 を示している。

【0174】

図 10 (a) に示された試料 41 に対して、上述した操作手順により、本実施形態によるマイクロダイセクションを行うことにより、図 10 (b) に示されるように、必要な領域 41a を含む回収したい領域 41g が、試料 41 の残りの領域 41h から切り離される。

【0175】

本実施形態によれば、能動光学素子のパターンに従ったレーザ光の広域照射と、レーザ光の収束照射とを簡単に切り替えることができる。これにより、試料の不要な領域の DNA の破壊と、試料 41 の回収したい領域の切り離しとを、一つの装置で容易に行うことができる。

【0176】

低い倍率の対物レンズを使用する場合には、視野が広いために視野面の一括照射では光量不足になる恐れがある。その場合には、リレーレンズを外して点照射に切り換えれば、光量不足を防ぐことができる。例えば、使用する対物レンズの倍率が 10 倍の場合、40 倍の倍率の対物レンズの使用時に対して視野の面積は 16 倍になる。

【0177】

試料の不要な領域の DNA を破壊するときは、リレーレンズを光路上に配置して、DNA の破壊に十分なエネルギー密度で試料 41 の広範囲にレーザ光を照射すればよい。また、試料 41 の回収したい領域を切り離すときは、リレーレンズを光路から外して、試料の蒸発に十分な高いエネルギー密度で試料 41 の狭範囲にレーザ光を照射しながら、試料 41 上のレーザ光のスポットを回収したい領域に沿って移動させればよい。

【0178】

変形例

第三実施形態では、反射型能動光学素子を用いた正立顕微鏡型のマイクロダイセクション装置において、リレーレンズをレーザ光の光路に対して着脱可能にした装置構成としているが、透過型能動光学素子を用いたマイクロダイセクション装置や倒立顕微鏡型のマイクロダイセクション装置において、リレーレンズを、必要に応じて適当な光学特性を持つ

ものに変更するとともに、レーザ光の光路に対して着脱可能にした装置構成としてもよい。

【0179】

つまり、図1や図3に示される透過型能動光学素子を用いた倒立顕微鏡型のマイクロダイセクション装置において、リレーレンズをレーザ光の光路に対して着脱可能にした装置構成としてもよい。また、図4に示される透過型能動光学素子を用いた正立顕微鏡型のマイクロダイセクション装置において、リレーレンズをレーザ光の光路に対して着脱可能にした装置構成としてもよい。図5に示される反射型能動光学素子を用いた倒立顕微鏡型のマイクロダイセクション装置において、リレーレンズをレーザ光の光路に対して着脱可能にした装置構成としてもよい。

【0180】

このようにしても、第三実施形態と同様な効果を期待できる。

【図面の簡単な説明】

【0181】

【図1】本発明の第一実施形態のマイクロダイセクション装置の概略構成を示している。

【図2】図2(a)は、モニタに表示された試料の観察像を示し、図2(b)は、モニタに表示されたパターン像を示し、図2(c)は、回収したい領域を切り離した状態にある試料の観察像を示している。

【図3】第一実施形態の第一変形例のマイクロダイセクション装置の概略構成を示している。

【図4】第一実施形態の第二変形例のマイクロダイセクション装置の概略構成を示している。

【図5】本発明の第二実施形態のマイクロダイセクション装置の概略構成を示している。

【図6】第二実施形態の変形例のマイクロダイセクション装置の概略構成を示している。

【図7】図7は、本発明の第三実施形態のマイクロダイセクション装置の概略構成を示している。

【図8】図8(a)は、図7に示されたリレーレンズが光路上に位置する状態において試料に照射されるレーザ光の様子を示し、図8(b)は、図7に示されたリレーレンズが光路から外れた状態において試料に照射されるレーザ光の様子を示している。

【図9】図9(a)は、試料の観察像の一例を示し、図9(b)は、マイクロミラーアレイに形成されたパターンを示し、図9(c)は、マイクロミラーアレイのパターン像を示し、図9(d)は、レーザ光を照射した後の試料の観察像を示し、図9(e)は、マイクロミラーアレイのパターンに従ってレーザ光が照射される範囲に比べて広範な試料の領域を示し、図9(f)は、図9(e)に示された領域に対してレーザ光の照射を位置を変えて四回行った後の試料を示し、図9(g)は、必要な領域を含む回収したい領域が切り離された試料を示している。

【図10】図10(a)は、第三実施形態によるマイクロダイセクションを行う前の試料を示し、図10(b)は、第三実施形態によるマイクロダイセクションを行った後の試料を示している。

【符号の説明】

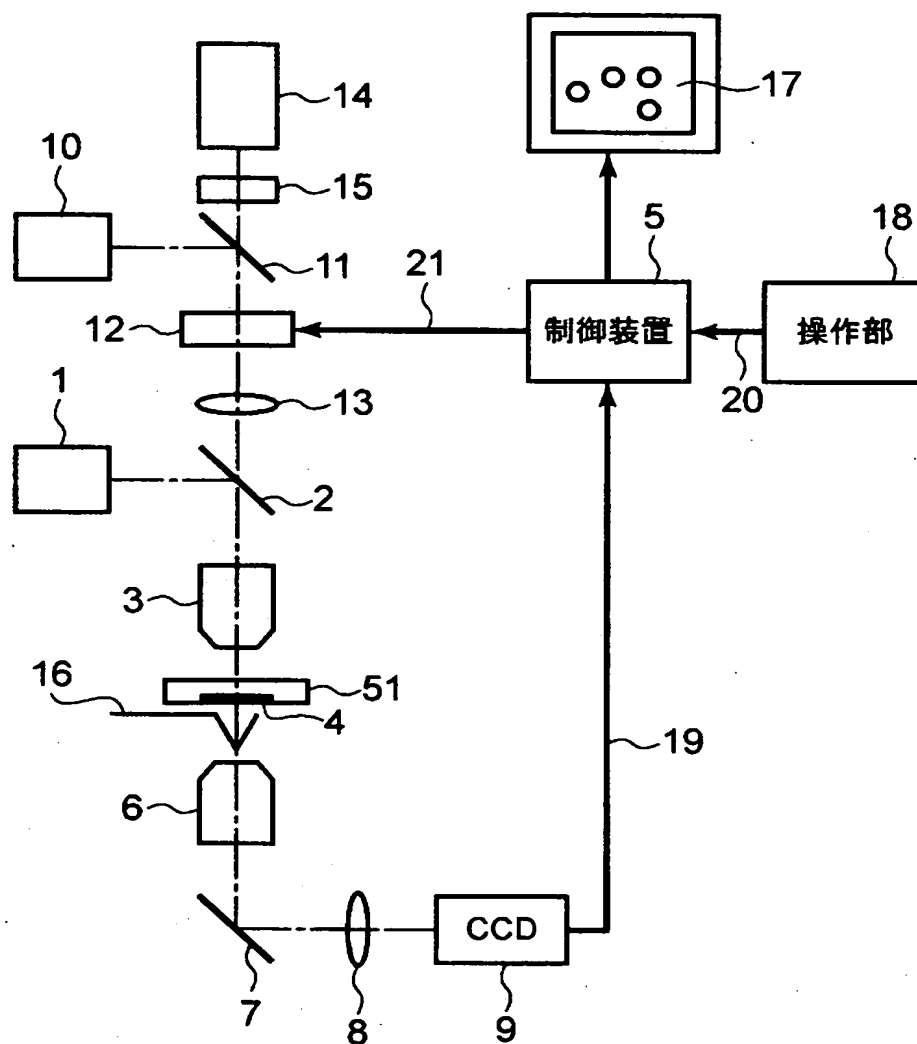
【0182】

1…光源、2…ハーフミラー、3…対物レンズ、4…試料、4a、4b…領域、4c…パターン部、4d…試料除去部、51…スライドガラス、5…制御装置、6…対物レンズ、7…反射ミラー、8…結像レンズ、9…CCDカメラ、10…光源、11…ハーフミラー、12…透過型液晶基板、13…リレーレンズ、14…レーザ光源、15…コリメータレンズ、16…試料回収チューブ、17…モニタ、18…操作部、19…画像信号、20…操作情報、21…制御信号、22…ハーフミラー、23…試料回収用接着キャップ、24

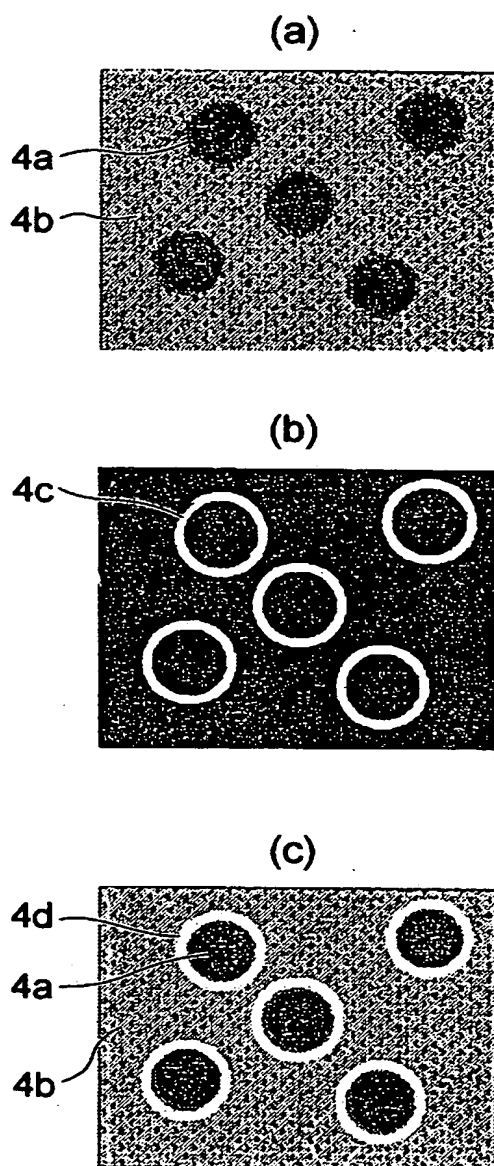
…ハーフミラー、2 4 1、2 4 2…反射ミラー、2 5…マイクロミラーアレイ、1 3 1…
リレーレンズ、1 3 2…リレーレンズ着脱機構。

【書類名】 図面

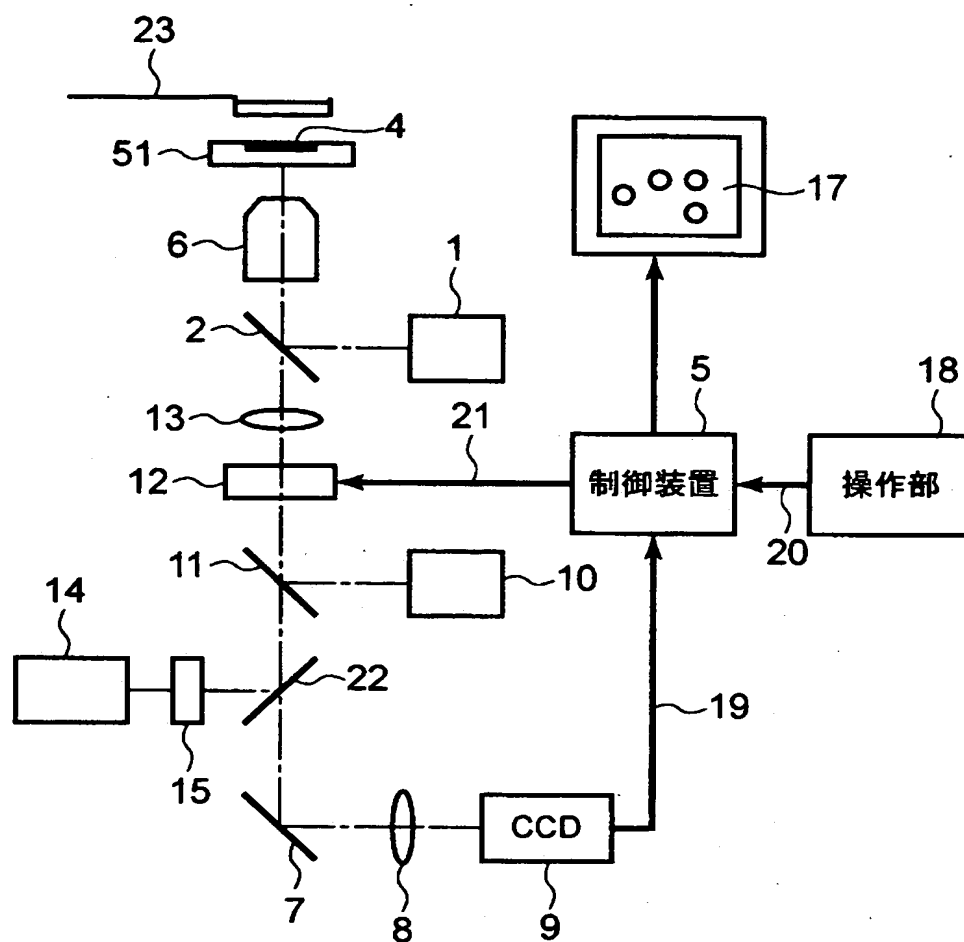
【図 1】



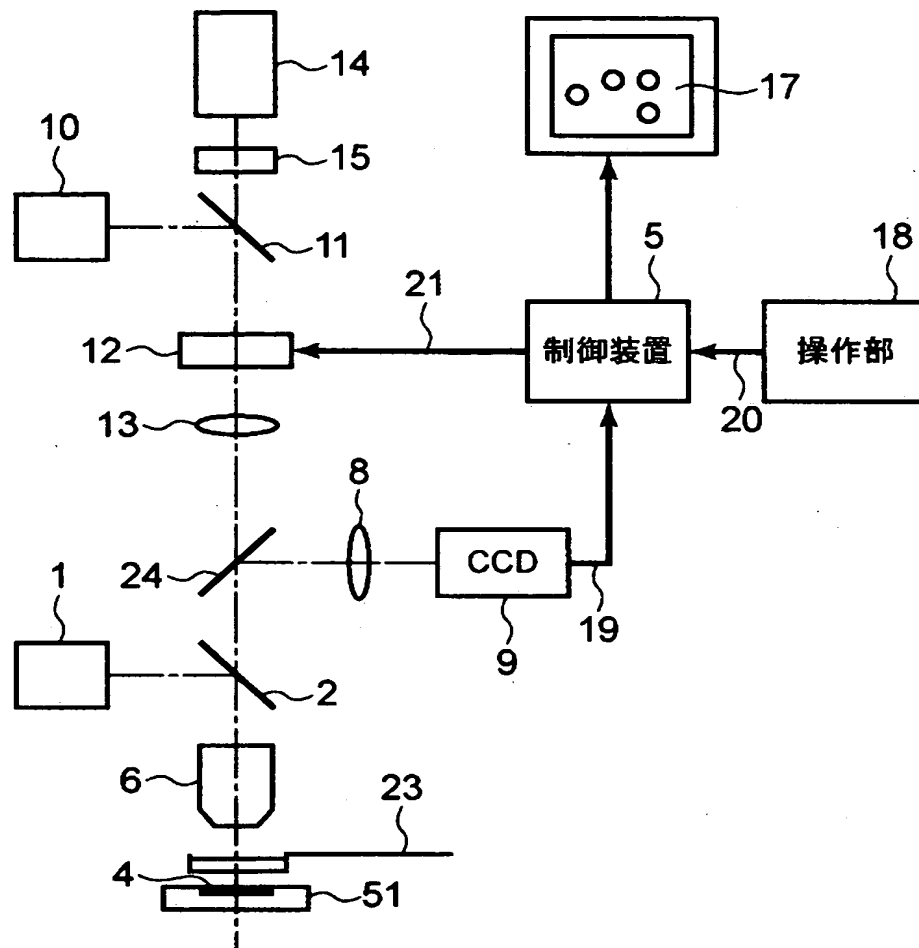
【図 2】



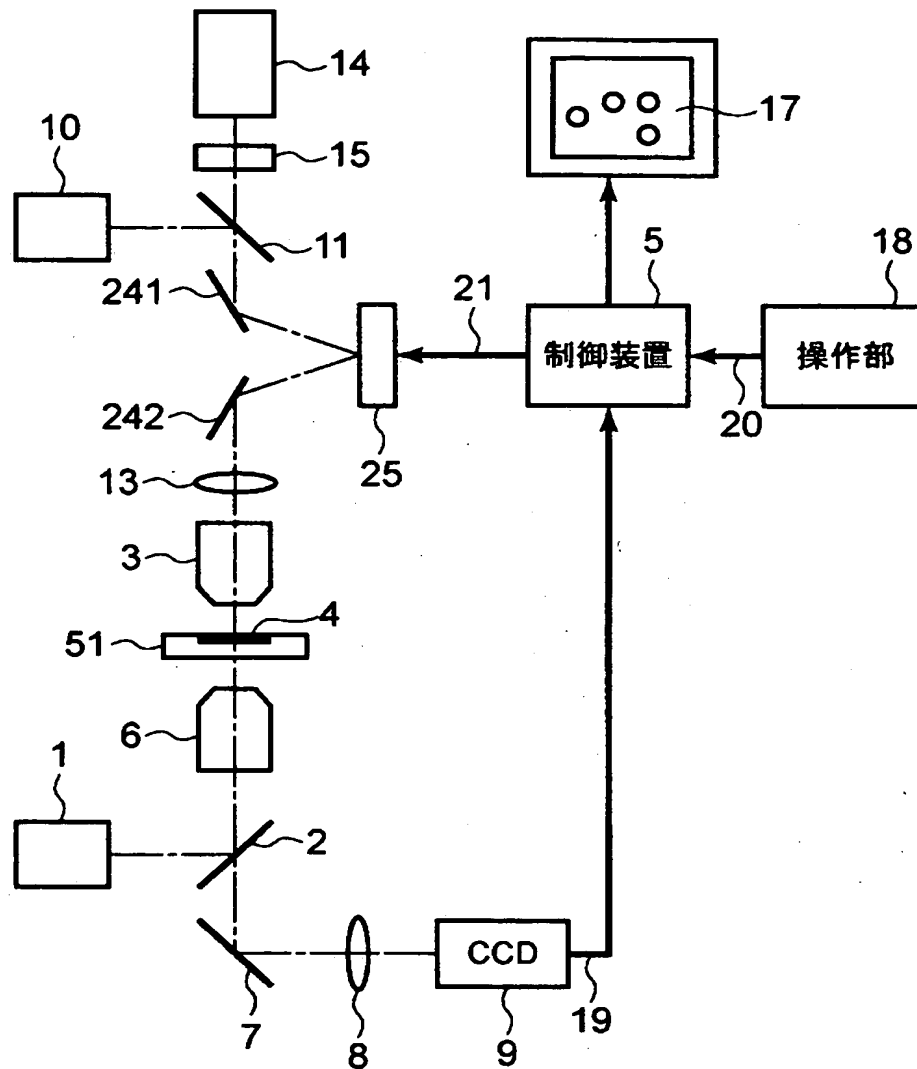
【図 3】



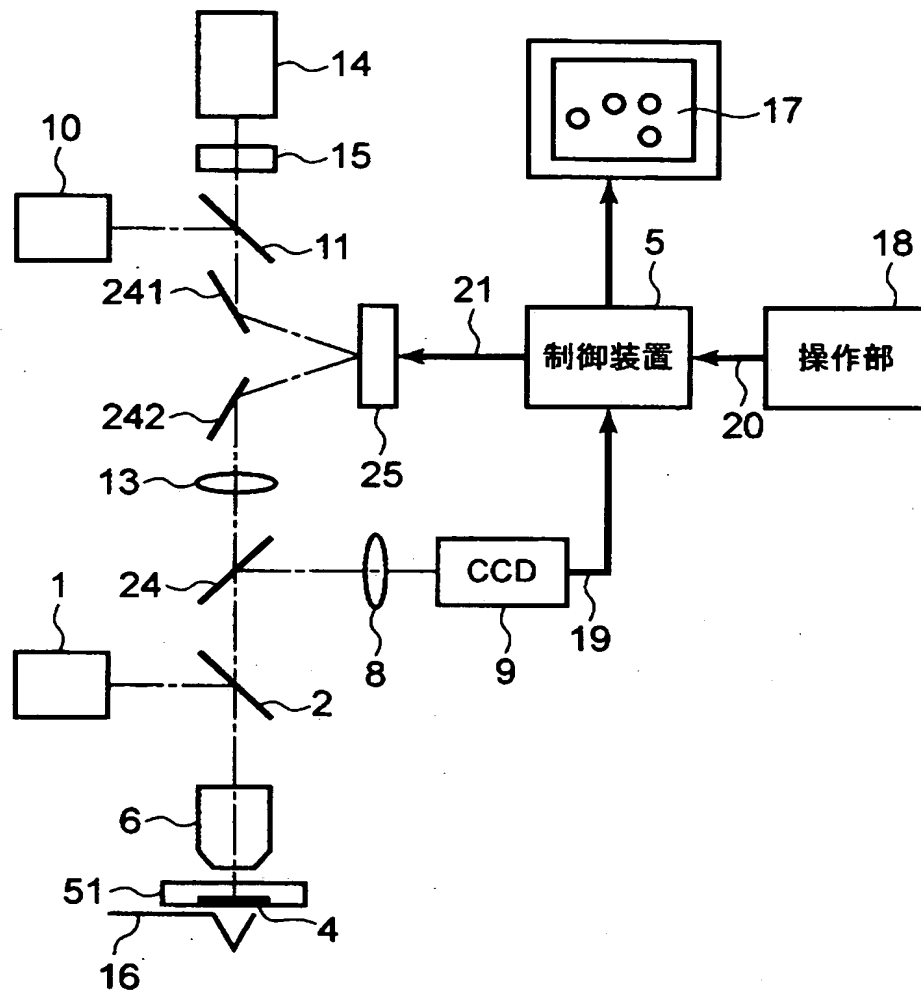
【図 4】



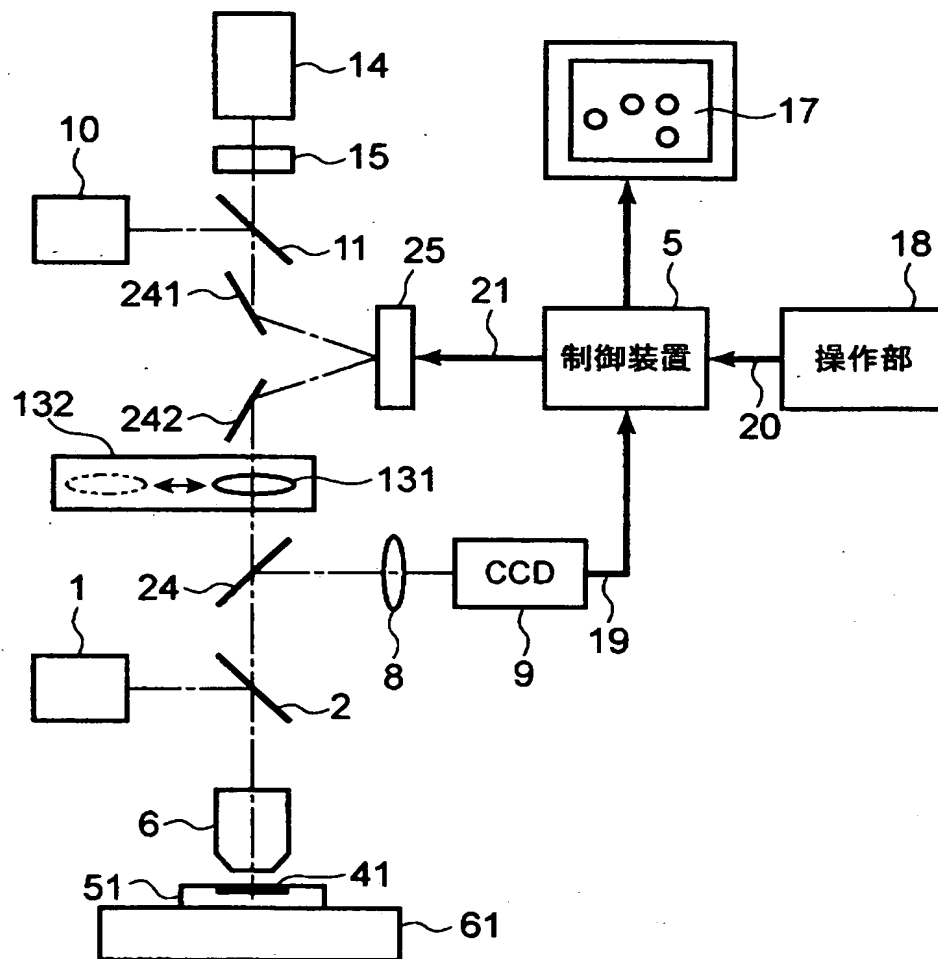
【図 5】



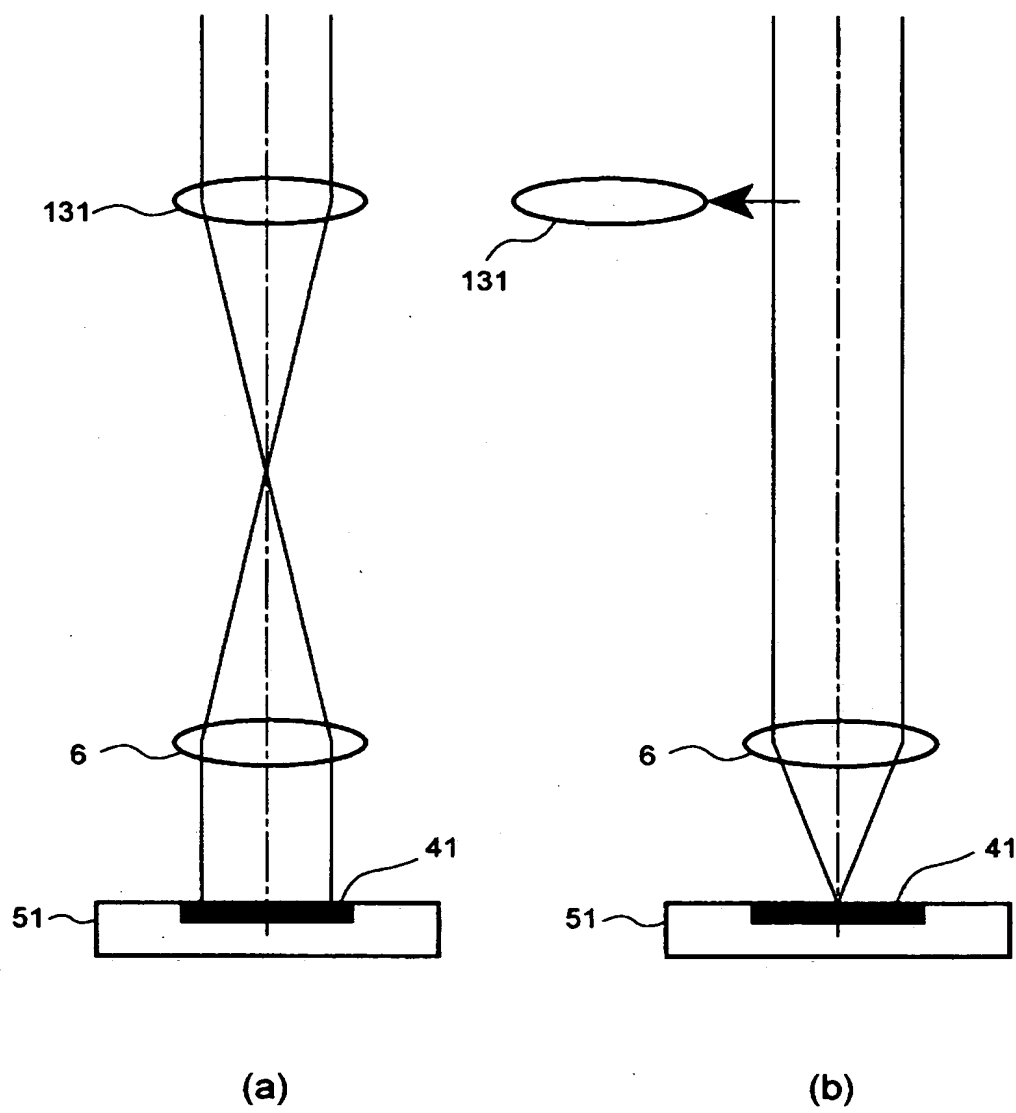
【図 6】



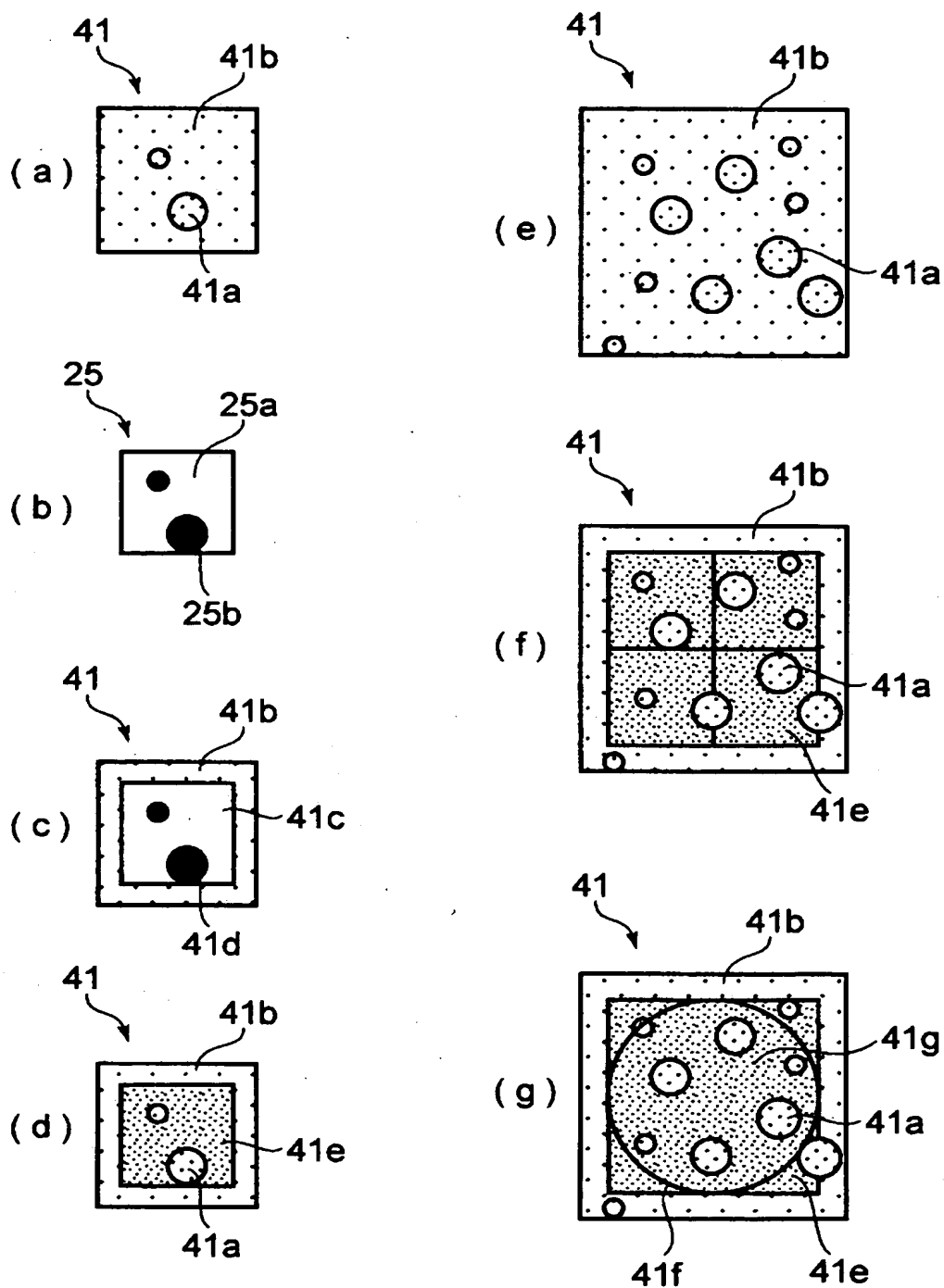
【図 7】



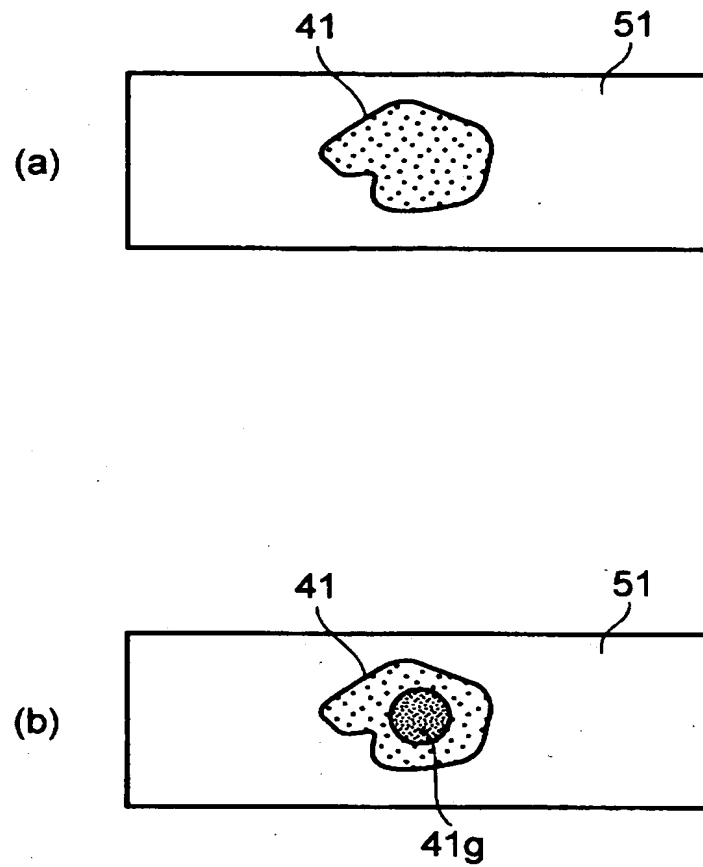
【図 8】



【図 9】



【図 10】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 試料の必要な領域を効率良く得ることを可能にするマイクロダイセクション装置を提供する。

【解決手段】 レーザ光源 14 からのレーザ光を試料 4 に照射するレーザ光照射用光学系に透過型液晶基板 12 を配置し、この透過型液晶基板 12 によりレーザ光源 14 から試料 4 に照射されるレーザ光照射領域を任意に設定して、試料 4 上の必要な領域に対応させて透過型液晶基板 12 によるレーザ光照射領域を設定することで、試料 4 上の必要領域を切り出し可能とする。

【選択図】 図 1

特願 2 0 0 3 - 3 4 1 1 5 7

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[0 0 0 0 0 0 3 7 6]

1. 変更年月日

1 9 9 0 年 8 月 2 0 日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都渋谷区幡ヶ谷 2 丁目 4 3 番 2 号

氏 名

オリンパス光学工業株式会社

2. 変更年月日

2 0 0 3 年 1 0 月 1 日

[変更理由]

名称変更

住 所

東京都渋谷区幡ヶ谷 2 丁目 4 3 番 2 号

氏 名

オリンパス株式会社